抗生物質 Polyoxin B 對 *Pyricularia oryzae* 及 *Alternaria* spp. 菌絲與胞子之抑制作用[1]

周 廷 光[2]　　簡 錦 忠[3]

一、前 言

抗生物質被應用於防治水稻稻熱病，迄今已有十年光景，在本省推廣使用也有五年以上，抗生物質對於田間的應用，不但能達預防與治療的效果，而且不易引起農作物發生藥害；再者，此類藥劑所防治的病害對象特異性非常高，對於人、畜、魚類的毒性也極低，因之，抗生物質在農業上之利用亦漸為吾人所注意。

然而，抗生物質之殺菌機構與其他製劑不盡相同，而且室內之藥效檢定結果往往不易與田間效果一致。筆者等有鑑於此，曾應用水稻幼苗接種法，以檢定有效之藥劑(1)。至於這些抗生物質製劑之殺菌作用如何，對於病菌菌絲及胞子之抑制情形值得作進一步的探討。本文乃就Polyoxin B對*Pyricularia oryzae*及*Alternaria* spp.菌絲及胞子之抑制作用加以試驗，同時以其他製劑予以比較。

本文惠蒙臺灣大學植物病虫害學系吳龍溪教授核閱並校正，謹此誌謝。

二、試驗材料與方法

1.供試材料：

A.供試病原菌：*Pyricularia oryzae* 菌株有 4T—28S，O'S—45S，6K—11S及 6I—8S 等及 *Alternaria* spp.

B.供試藥劑：Polyoxin B (3% Polyoxin B)，Kasumin (2% Kasugamycin), PMA (5% Phenyl mercuric acetate, Hg3%)，Arasan (50%Tetramethyl thiuram disulfide), Suzu (20% Triphenyltin hydroxide)，F1991 (50%1— (butylcarbamoyl) —2—benzimidazol carbamic acid, methyl ester)，Mertect (40%2—4'—thiazolylbenzimidazole) 及 Granosan M (7.7% Ethyl mercury *p*—toluene sulfonanilide, Hg3.2%)。

2.試驗方法：

A.對水稻稻熱病病菌菌絲生長抑制之測定

（1）供試藥劑按有效成份稀釋為各種濃度（如表一、二），將濾紙圈（直徑6mm）各浸於不同的濃度中，經10分鐘取出陰乾。

（2）以無菌水將預先斜面培養於Yeast agar之病菌（經20天）胞子洗出，胞子濃度調至一視野50個胞子左右（10×10）。

（3）將馬鈴薯培養基（pH5.0）溶解，冷却至 45°C左右時，將20ml胞子懸浮液倒入 300ml（45°C）培養基中。

（4）培養基與胞子懸浮液混合均勻，倒入無菌之培養皿中，每皿20ml，待凝固後，將浸藥之紙圈移置於培養基上，經７天，調查其結果，每處理重複５次。

B.對水稻稻熱病病菌胞子發芽抑制之測定

（1）供試藥劑按有效成份稀釋為各種濃度（如表三、四），備妥２%之瓊脂培養基（Water agar），倒於無菌之培養皿中，凝固後待用。

---

①試驗報告農試字第五四九號。
②臺灣大學植病博士班研究生。
③臺灣省農業試驗所荐任技士。

（2）將藥液滴一滴於Agar上（25滴=1ml），乾後，再滴一滴胞子懸浮液（一視野 100個胞子）於藥上，經一夜觀察其結果。

C.對 *Alternaria* spp.菌絲生長之抑制測定

（1）濾紙圈浸藥抑制測定：方法如 A項，而 *Alternaria* spp. 為培養於馬鈴薯培養基上經過三星期。

（2）濾紙圈滴加藥液及胞子懸浮液抑制測定

(A）各藥劑按成品重量，稀釋為各種濃度（如表五）。

(B）溶解馬鈴薯培養基，冷却至 45°C左右，倒入無菌之培養皿，每皿20ml，凝固後待用。

(C）以無菌水將培養於馬鈴薯培養基上三星期之病菌胞子洗出，調胞子濃度至一視野為50～100個。

(D）濾紙圈放於大張之濾紙上，每一紙圈滴一滴藥液，乾後再滴一滴胞子懸浮液。

(E) 以夾子將滴有藥液及胞子懸浮液之濾紙圈培養於已凝固之培養基上，存放於28°C恆溫箱中，經過四天，調查菌絲生長之有無。

（3）菌叢浸藥抑制測定

(A) 將 *Alternaria* spp.培養於四角瓶裝之馬鈴薯培養基上，經三星期，菌絲及胞子長滿平面時待用。

(B) 以挖孔器（直徑6mm）切取菌叢塊，挑出浸於各種供試藥液中，經三分鐘取出，再培養於已灌注馬鈴薯培養基之培養皿中，在28°C恆溫箱中，經四天，觀察菌絲生長之有無。

（4）毒餌生長抑制測定

(A) 溶解馬鈴薯培養基，冷却至45°C左右，加入藥劑稀釋為各種不同之濃度；再倒入無菌之培養皿中，每皿20ml，凝固後待用。

(B）將挖孔器切出之菌叢培養於上述培養基上，置於28°C 恆溫箱內，經四天，調查菌絲生長之有無。

D.對 *Alternaria* spp.胞子發芽抑制之測定：方法如B項。

三、結　果

1.Polyoxin B，Kasumin 及 PMA 對水稻稻熱病菌菌絲生長之抑制效果：

三種供試藥劑中，PMA 在 0.12ppm以上即有抑制菌絲生長之效果，而Polyoxin B及Kasumin則須高達 100ppm以上才能表現抑制菌絲生長之效果。不同的供試菌株間無顯著差異。試驗結果整理如表一、表二。

表一　Polyoxin B 及 Kasumin 對水稻稻熱病菌菌絲生長抑制之測定

供試藥劑	菌　株	藥劑使用濃度（ppm）										
		1.25	2.5	5	10	20	80	100	200	400	800	1,600
		mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
Polyoxin B	4T—28S	0	0	0	0	0	0	14.1	20.0	40.6	51.0	56.2
	O′S—45S	0	0	0	0	0	0	0.0	32.0	49.0	51.0	67.2
Kasumin	4T—28S	0	0	0	0	0	0	21.0	17.2	53.2	61.6	35.4
	O′S—45S	0	0	0	0	0	0	0.0	20.0	54.2	32.0	69.8

表二　PMA 對水稻稻熱病菌菌絲生長之抑制測定

藥劑濃度 / 菌株	0.04ppm	0.08ppm	0.12ppm	0.16ppm	0.20ppm	0.24ppm
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
4T—28S	0	0	15.3	15.0	17.3	17.3
6K—11S	0	0	15.6	16.3	16.6	16.3
6I—8S	0	0	16.0	15.6	15.6	16.0

2.Polyoxin B, Kasumin 及 PMA 對水稻稻熱病菌胞子發芽之抑制效果：

PMA 濃度在0.24ppm 以上，則可完全抑制胞子之發芽；而 Polyoxin B 雖在20ppm以上亦不能完全抑制胞子之發芽；Kasumin 則在供試濃度範圍內其發芽率與對照處理相差無幾。經 Polyoxin B 處理過之胞子，其發芽管有球狀膨大之變異現象，Kasumin處理者，發芽管未見變異現象。PMA 處理過之胞子即使能發芽，發芽管則較對照處理爲短，亦無顯著變異現象。試驗結果如表三，表四及圖一、二。

表三　Polyoxin B 及 Kasumin 對水稻稻熱病菌胞子發芽抑制之測定

供試藥劑	菌　株	藥劑使用濃度(ppm)					對　照 (1,500胞子)
		1.25	2.5	5	10	20	
		個	個	個	個	個	個
Polyoxin B	4T—28S	123	915	815	1,454	1,390	12
	O′S—45S	103	377	265	937	1,364	9
Kasumin	4T—28S	10	9	8	20	13	8
	O′S—45S	9	6	10	14	8	10

表四　PMA 對水稻稻熱病菌胞子發芽之抑制測定

藥劑濃度 / 菌株	0.04ppm	0.08ppm	0.12ppm	0.16ppm	0.20ppm	0.24ppm	對　照 (500胞子)
	個	個	個	個	個	個	個
4T—28S	95	81	110	126	212	375	3
6K—11S	35	73	98	118	247	362	2
6I—8S	224	265	328	367	354	420	55

3.幾種藥劑對 *Alternaria* spp.菌絲生長之抑制效果：

六種供試藥劑，四種不同處理方法測定的結果整理如表五，自表中可知F1991,Mertect, Polyoxin B三種藥劑對菌絲之生長皆無抑制之作用，而 Granosan M則完全可抑制菌絲之生長；Sugu 則在濾紙圈浸藥處理時，稍可抑制菌絲之生長，其他則與對照處理無差別。 Arasan 則除了對菌叢藥劑處理未能完全抑制菌絲生長之外，其他處理方法都能完全抑制生長。

表五　幾種藥劑對 *Alternaria* spp. 菌絲生長之抑制測定

方法	濃度 \ 藥劑	Arasan	Sugu	F1991	Mertect	Granosan M	Polyoxin B	CK
菌叢藥劑處理	ppm 500	+++	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
	1,000	++−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
	2,000	++−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
濾紙浸藥抑制	500	mm 17	mm 9	+++	+++	mm 36.0	+++	+++
	1,000	24	10	+++	+++	44.8	+++	+++
	2,000	35	12	+++	+++	60.5	+++	+++
毒餌抑制	500	−−−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
	1,000	−−−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
	2,000	−−−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
胞子液處理 濾紙滴藥劑及	500	−−−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
	1,000	−−−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++
	2,000	−−−	+++	+++	+++	−−−	+++	+++

4.幾種藥劑對*Alternaria* spp.胞子發芽之抑制效果：

在六種供試藥劑中， Arasan, Granosan M二種藥劑在三種不同供試濃度（500，1,000，2,000 ppm）下，皆完全抑制住胞子之發芽，而其他藥劑處理之胞子發芽率都在三成以上 ，其中 F1991, Polyoxin B 在發芽胞子中，有些發芽管有膨大現象；而 Polyoxin B 會使發芽管呈球狀膨大的情形，猶如 Polyoxin B 對稻熱病菌胞子發芽之作用。對照處理之胞子發芽率在九成以上，部分作用情形可參照圖三。

四、討　論

Polyoxin 爲含有多種成份的抗生物質，如成份 A,B,C,D,E,F,及G 等，自土壤微生物 *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis* 分離獲得（2,8），對眞菌具有特殊抑制作用，而對於細菌則不具作用（8,10,11）。在許多成份中，其抑制眞菌的作用力亦各有差異，諸如 Polyoxin D 對水稻紋枯病菌在最低濃度（1.56ppm）時即具有抑制作用，而 Polyoxin B 對紋枯病菌之抑制作用須要3.125 ppm 之濃度，對稻熱病菌則爲6.25ppm，對於 *Alternaria kikuchiana* 則高達12.5ppm；(2,11)然而 Polyoxin 在 in vivo 之試驗結果觀之，則在許多成份中，以 Polyoxin B 對 *Alternaria* 屬菌具最强的抑制作用（3）根據一般室內之藥效測定結果，Polyoxin 在特定之濃度範圍內能抑制菌絲之生長，胞子之發芽，胞子的形成及菌核之生育等 （2,3）；而根據盆栽接種及田間病害之防除測定結果，Polyoxin 都具有預防的效果（1,2,3）在治療效果上，對水稻稻熱病之盆栽測定結果，亦不甚顯着(1)。再者 *Alternaria* 屬胞子對於 Polyoxin 各成份之反應，皆呈現發芽管球狀膨大的變異現象(2)。就本試驗之結果觀之，Polyoxin B 對稻熱病菌胞子之發芽，菌絲之生育，在特定之濃度皆可達抑制之效果。200ppm以上則可抑制菌絲之生長，20ppm以上則能抑制胞子之發芽。而在其他供試濃度範圍(500，1,000，2,000ppm—按成品稀釋）內，對 *Alternaria* 屬菌並未呈現抑制菌絲生長及胞子發芽之作用。然而，不論在何種供試濃度，皆能引起胞子發芽管之球狀膨大變異現象。這種變異胞子

據江口氏（2）之試驗，其病原性已大為減低。惟此項病原性之減低，是否完全由於發芽管變異所引起，抑或另有其他原因，尚待進一步探討。據 Endo & Misato (4,5)報告，Polyoxin D 對 *Neurospora Crassa* 之作用研究結果，指出其作用乃在於細胞壁形成之被抑制。此點可能即為 Polyoxin 抑制眞菌的作用機構。

在比較試驗之藥劑中，Kasumin 對稻熱病菌菌絲之生長抑制情形與 Polyoxin B 得到相同的結果，而對胞子發芽之抑制却無多大作用，與對照處理差別不多；對於胞子發芽管不引起變異現象。但本藥劑對於稻熱病之防治，不論在盆栽或田間試驗皆具有預防及治療效果 (1,6,7) 其作用機構被認為對菌類蛋白質合成之抑制所致 (5)。本藥劑對 *Pseudomonas* 屬細菌亦具有抑制作用 (6)。其他供試藥劑中，如 PMA，Granosan M 在供試濃度下，皆可抑制菌絲之生長及胞子之發芽。Arasan 可抑制胞子之發芽，但對菌絲之生長抑制，則因試驗方法之不同而有差異。其他如 Suzu, Mertect, 及F1991在供試濃度下 (500，1,000，2,000ppm) 對胞子發芽，菌絲生長則無顯著之抑制作用。其中 F1991 似對 *Alternaria* 屬胞子發芽亦有引起膨大現象，但不似 Polyoxin，此種現象值得吾人進一步探討。F1991 對香蕉軸腐病之防治確有其特殊之功效，但室內之試驗顯示，未能完全抑制胞子之發芽，對菌絲之生育則有抑制作用 (9,12) 此點似乎與本報告稍有出入，可能由於菌或藥劑濃度之差異所致。

由上述室內藥效檢定結果，吾人可推知 Polyoxin 對胞子發芽能引起發芽管呈球狀膨大之變異現象，以致對菌之侵入有顯著之阻礙作用，因之，預防的功效要比治療之效果為佳。

五、摘　要

Polyoxin B 在 200ppm 以上濃度，可抑制水稻稻熱病菌菌絲之生長，20ppm 以上則可抑制胞子之發芽。在15～60ppm範圍內，對 *Alternaria* 屬菌之胞子發芽及菌絲生長都不具有抑制之作用；惟不論在任何供試濃度下，對於稻熱病菌及 *Alternaria* 屬菌胞子之發芽管皆能引起球狀膨大之變異現象。

在比較試驗之藥劑中，Kasumin 對稻熱病菌菌絲生長之抑制情形與 Polyoxin B 相同，而對胞子發芽之抑制却無多大作用；對於胞子發芽管亦不引起變異現象。其他如PMA，Granosan M在供試濃度下完全抑制供試菌之胞子發芽及菌絲生長；Arasan 則可抑制胞子之發芽，但對菌絲之生長抑制，則因試驗之方法有所差異。而 Suzu, Mertect 及 F1911 則在供試濃度下 (500，1,000，2,000 ppm一按成品稀釋)，對胞子發芽及菌絲生長則均無顯著之抑制作用。

由上述室內藥效檢定結果，吾人可推知 Polyoxin 對胞子發芽能引起發芽管呈球狀膨大之變異現象，以致對菌之侵入有顯著之阻礙作用，因之，預防的功效要比治療效果為佳。

六、參考文獻

1. 周廷光、簡錦忠 (1966)，室內稻苗接種法測定藥劑對葉稻熱病之防治效果，植物保護學會會刊 8 (4)：373—376。
2. 佐佐木茂樹、太田農夫也、江口潤、古川靖、赤柴健夫、土山哲夫及鈴木三郎 (1968)，Polyoxin に關する研究 Ⅷ. 水稻紋枯病に對する作用機作，日本植物病理學會報 34：272—279。
3. 江口潤、佐佐木茂樹、太田農夫也、赤柴健夫、土山哲夫及鈴木三郎 (1968)，Polyoxin に關する研究 Ⅸ. Alternaria 病に對する作用機作，日本植物病理學會報 34：280—288。
4. Endo, A. and T. Misato (1969), Polyoxin D, a competitive inhibitor of UDP—N—acetyl— glucosamine : chitin N-acetylglucosaminyl transferase in *Neurospora crassa*. Biochem. & Biophys. Res. Commun. 37 (4) : 718—722.
5. Gottlieb, D. and P. D. Shaw (1970), Mechanism of action of antifungal antibiotics.

Ann. Rev. Phytopath. 8 : 371—402.

6.Hamada, M., T. Hashimoto, T. Takahashi, S. Yokoyama, M. Miyake, T. Takeuchi, Y. Okami and H. Umezawa (1965) , Antimicrobial activity of Kasugamycin. J. Antibiotic Japan 18 (2) : 104—106.

7.Ishiyama, T., I. Hara, M. Matsuoka, K. Sato, S. Shimada, R. Izama, T. Hashimoto, M. Hamada, Y. Okami, T. Takeuchi and H. Umezawa (1965) , Studies on the preventive effect of Kasugamycin on rice blast. J. Antibiotic Japan 18 (3) 115—119.

8.Isono, K., J. Nagatsu, Y. Kawashima, and S. Suzuki (1965) , Studies on polyoxins, antifungal antibiotics Part 1. Isolation and characterization of polyoxin A and B. Agr. Biol. Chem. 29 (9) : 848—854.

9.Ogawa, J. M., H. J. Su, Y. P. Tsai, S. S. Chen and C. H. Liang (1968) , Protective and therapeutic action of (1—(butylcarbamoyl) — 2 — benzimidazole carbamic acid, methyl ester) (F1991) against the banana crown rot pathogens. Plant Protection Bulletin 10 (2) : 1—17.

10.Suzuki, S., K. Isono, J. Nagatsu, T. Mizutani, Y. Kawashima and T. Mizuno (1965) , A new antibiotic, polyoxin A. J. Antibiotic Japan 18A : 101—103.

11.Suzuki, S., K. Isono, J, Nagatsu, Y. Kawashima, K. Yamagata, K. Sasaki and K. Hashimoto (1966) , Studies on polyoxins, antifungal antibiotics Part IV. Isolation of polyoxins C,D,E,F, and G,new components of polyoxin complex. Agr. Biol. Chem. 30 (8) : 817—819.

12.Tsai, Y. P., H. J. Su, J. M. Ogawa, and S. S. Chen (1968) , Control of crown rot and finger spotting on banana hands with 1— (butylcarbamoyl) —2—benzimidazole carbamic acid,methyl ester) (F1991) . Plant Protection Bulletin 10 (3) : 35—41.

Studies on the action of Polyoxin B (antifungal antibiotic) on the mycelial growth and spore germination of *Pyricularia oryzae* and *Alternaria* spp.

by

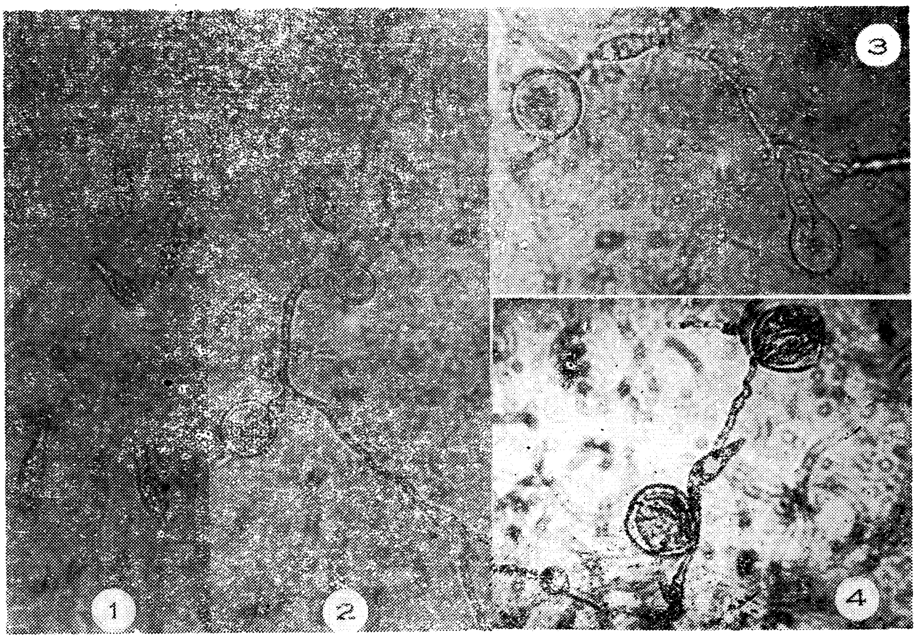
Chou, Tyng-guang and Chin-chung Chien

Summary

The mycelial growth and spore germination of *Pyricularia oryzae* was inhibited by Polyoxin B at concentrations 200ppm and 20 ppm, respectively. However, they were not inhibited at concentrations at 15—60ppm while *Alternaria* spp. were tested. The pronounced morphorlogical effect on spore germination of *P. oryzae* and *Alternaria* spp. at tested concentrations was the formation of a bulbous germ tube. It was proposed that the formation of a bulbous germ tube was inhibited to penetrate the host plant to achieve the protective effect against the disease development.

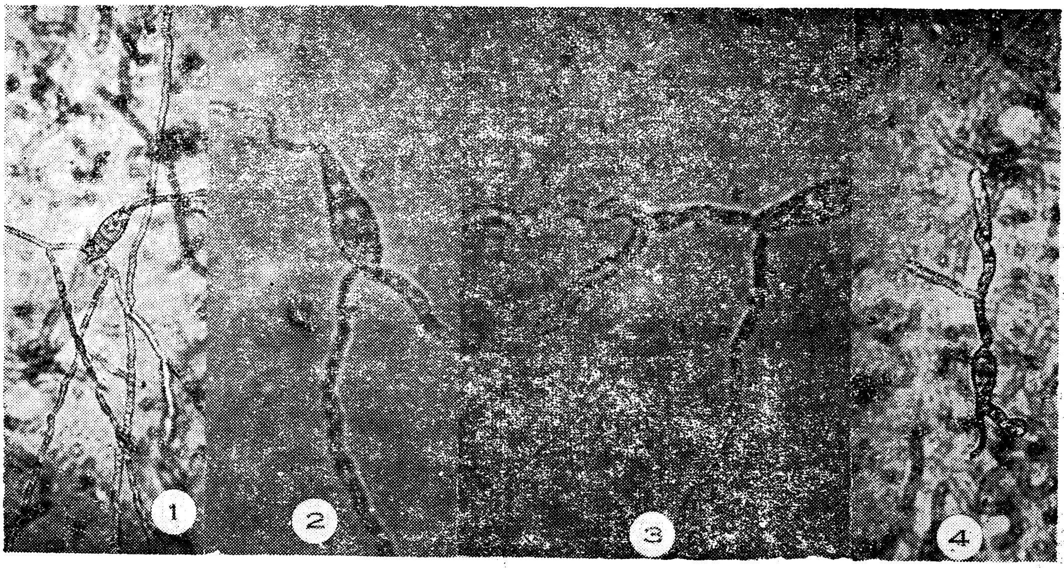
Among the other comparative tested chemicals, the inhibition of Kasumin on mycelial growth of *P. oryzae* was similar with Polyoxin B, while it was no inhibition

on spore germination. PMA and Granosan M completely inhibited the spore germination and mycelial growth at tested concentrations of tested fungi. Arasan inhibited the spore germination and the inhibition of mycelial growth was changed depend on different methods tested. Suzu, Mertect and F1991 did not inhibit the mycelial growth and spore germination at concentrations on tested fungi.



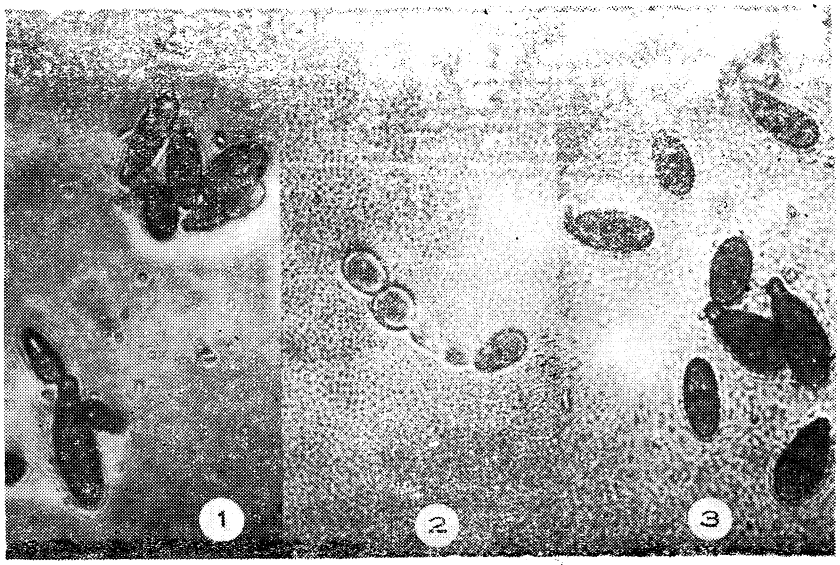
(1) PMA 80ppm (2) Polyoxin B 20ppm
(3) Polyoxin B 80ppm (4) Polyoxin B 200ppm

圖一、Polyoxin B 對 *Pyricularia oryzae* 胞子發芽之作用



(1) CK (2) Kasumin 5ppm (3) Kasumin 10ppm (4) Kasumin 800ppm

圖二、Kasumin 對 *Pyricularia oryzae* 胞子發芽之作用



(1) Arasan (2) Polyoxin B (3) Granosan M

圖三、幾種藥劑對*Alternaria* spp. 胞子發芽之作用 (2,000ppm)